

УДК 582.284:58.084.1

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕМПЕРАТУРИ І ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ РОСТУ КУЛЬТУР ГРИБА *LEPISTA PERSONATA* (FR. : FR.) СООКЕ – ПЕРСПЕКТИВНОГО ОБ'ЄКТА ПРОМИСЛОВОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

© 2010 р. А. В. Тюфкій, М. І. Бойко

Донецький національний університет

(Донецьк, Україна)

Визначена швидкість росту та морфологія міцелію природних ізолятів *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke на середовищах органічного складу за різних температур. Встановлено, що оптимальна для росту ізолятів Р-1, Р-2 та Р-4 температура 22°C, а для культури Р-3 *Lepista personata* – 22-26°C. На різних живильних середовищах відбувалася зміна забарвлення міцелію, його щільності та швидкості росту. Визначили живильні середовища, на яких відбувався швидкий ріст міцелію культур *Lepista personata*.

Ключові слова: *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke, гриб, міцелій, температура, живильне середовище

В останні десятиріччя переконливо доведена висока біологічна цінність грибів як харчового продукту, що включає комплекс поживних та лікарських речовин. Їстівні гриби містять незамінні амінокислоти, ненасичені жирні кислоти та важливі мікроелементи. Особливо багаті гриби на лізин, триптофан та треонін, яких мало в рослинах, а також на залізо та кобальт (Дудка и др., 1992). Гриби є джерелом вітамінів С, D, Е і групи В, містять антиоксидантний комплекс, волокнисті речовини, багато біологічно активних сполук (Денисова, 1991; Белова, 2004). Гриби цінуються як дієтичний продукт через незначну кількість калорій, жирів, іонів натрію, а також відсутність холестерину. Доведено, що вживання грибів зменшує кількість холестерину в крові, зменшує ризик серцево-судинних захворювань, підвищує імунітет людини до різних інфекційних, у тому числі вірусних, захворювань (Бухало и др., 1996; Hobbs, 1996; Великанов и др., 2000; Краснопольская и др., 2001; Дудка та ін., 2005).

Інтенсивний розвиток світового промислового виробництва їстівних грибів зумовлений передусім можливістю використання для куль-

тивування грибів різноманітних субстратів, у тому числі відходів сільського господарства і переробної промисловості: соломи злакових рослин, соняшникового лушпиння, відходів переробки винограду, тирси деревини тощо (Билай, 1980; Бисько и др., 1987; Негруцкий и др., 1995; Шреурс, 2004).

Штучне культивування їстівних грибів має також ряд медико-екологічних переваг. Вони особливо вагомі в умовах України, для більшості території якої характерний високий ступінь забруднення. Використання при штучному культивуванні грибів екологічно безпечних відходів сільського, лісового господарства та переробної промисловості дає можливість отримувати якісні та високопоживні харчові продукти навіть на територіях з підвищеним рівнем техногенного забруднення (Даниляк та ін., 1996).

Вивчення культуральних особливостей міцеліальних колоній на живильних середовищах є одним з актуальних завдань сучасної мікології та грибовництва. Воно дає можливість ідентифікувати грибні культури у вегетативній стадії розвитку, підтримувати їх в активному фізіологічному стані та зберігати тривалий час. Крім того, такі дослідження мають велике практичне значення. Зокрема, за допомогою одержаних даних можна встановити залежність

Адреса для кореспонденції: Тюфкій Андрій Володимирович, кафедра фізіології рослин Донецького національного університету, вул. Щорса, 46; м. Донецьк, 83050, Україна; e-mail: andreys-80@mail.ru

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕМПЕРАТУРИ І ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА

Органічні компоненти агаризованих живильних середовищ

Живильне середовище	Компоненти	Кількість, г/л
Ячмінний агар (ЯА)	ячмінь	100
Картопляно-глюкозний агар (КГА)	картопля	200
Морквяно-глюкозний агар (МА)	морква	200
Рисовий агар (РА)	рис	100
Гороховий агар (ГА)	горох	100
Пшеничний агар (ПА)	пшениця	100
Кукурудзяний агар (КУА)	кукурудза	100
Середовище з висівками (ВА)	висівки	100

росту гриба від умов вирощування, тобто виявити живильні середовища, які забезпечують швидкий ріст міцеліальних культур (Дудка и др., 1982).

Гриб *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke має антибіотичні властивості, аналогічні відомим антибіотикам: левоміцетину, біоміцину, стрептоміцину. З грибів роду рядовка отримано антибіотик клітоцибін, який пригнічує ріст багатьох видів бактерій, а також, туберкульозної палички. Екстракт з цього гриба знижує рівень цукру в крові та має протипухлинні та імуномодулюючі властивості (Dulger et al., 2002; Murgic et al., 2002; Moradali et al., 2007). Цей гриб є перспективним об'єктом для наукових досліджень з метою отримання харчових та лікарських речовин. Однак він недостатньо досліджений, існують лише окремі наукові повідомлення з Австралії стосовно характеру росту цього гриба за різних температур (Stott et al., 1996). В Україні і Росії публікацій в науковій літературі, присвячених дослідженню цього гриба в лабораторних умовах, нами не знайдено. Зважаючи на це, існує потреба визначити умови, необхідні для отримання біомаси цього гриба та утворення плодових тіл при культивуванні.

Мета даної роботи – визначити оптимальні температури і кращі живильні середовища для росту нових ізолятів гриба *L. personata* в умовах штучного культивування.

МЕТОДИКА

Об'єктами досліджень були природні ізоляти гриба *L. personata*, виділені з плодових тіл, знайдених серед злакових степових трав біля дерев клену та тополі в с. Старомлинівка Великоновосілківського р-ну Донецької області (Р-3; Р-4) і на лузі біля с. Кремінець у

Мар'їнському районі Донецької області (Р-1; Р-2).

При вивченні середньої радіальної швидкості росту природних ізолятів *L. personata* використовували культури семидобового віку, вирощені на глюкозо-агаровому середовищі при температурі $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Для дослідження ростових показників кожний ізолят *L. personata* вирощували на агаризованому ячмінному відварі (ЯА), рисовому відварі (РА), морквяному відварі (МА), гороховому відварі (ГА), кукурудзяному відварі (КУ), відварі з висівок (ВА), картопляно-глюкозному середовищі (КГА) у чашках Петрі при температурах 20, 22, 24, 26, 28 та 30°C у термостатах ТС-80М-2. Органічні рослинні компоненти використовували для отримання відвару, в якому розчиняли 10 г глюкози та 15 г агар-агару. Кількість органічних компонентів усіх використаних живильних середовищ у розрахунку на 1 л дистильованої води представлена в таблиці.

Для інокуляції чашок Петрі шматочок міцелію розміром приблизно 5×5 мм перенесли мікологічним гачком над полум'ям пальника у центр поверхні щільного живильного середовища (Дудка и др., 1982).

Критерієм добору оптимальної температури і живильного середовища слугувала найбільша швидкість росту міцелію гриба. Для визначення лінійного росту щодоби вимірювали діаметр грибної колонії за кінцевими гіфами у чотирьох напрямках від місця посіву до кінця зони росту міцелію, до повного обростання міцелієм живильного середовища.

На основі отриманих даних визначали середню радіальну швидкість росту (V_r) за формулою:

$$V_r = \frac{R_t - R_0}{t - t_0},$$

де R_t – радіус колонії в момент часу t ; R_0 – радіус колонії в момент часу t_0 .

Повторність дослідів триразова. Статистичну обробку проводили за методами дисперсійного аналізу та множинних порівнянь середніх за критерієм Дункана (Приседський, 1999). На графіках наведені середні арифметичні величини та їхні стандартні відхилення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Статистичний аналіз отриманих даних показав, що найкращій ріст ізоляту Р-1 *L. personata* на більшості живильних середовищ відбувався за температури 20 та 22°C. Інші температури забезпечували меншу середню швидкість росту, а температура 30°C інгібувала ріст міцелію даного ізоляту. Але відмінності між середньою швидкістю росту міцелію на різних живильних середовищах за однакової температури мали місце (рис. 1).

За температури 20°C достовірно більша середня радіальна швидкість росту відзначалася на живильних середовищах з рисом (4,10±0,14 мм/добу), горохом (4,43±0,08 мм/добу), ячменем (4,70±0,50 мм/добу), висівками (4,53±0,39 мм/добу), кукурудзою (3,87±0,35 мм/добу) та морквою (4,40±0,28 мм/добу).

Температура 22°C достовірно найбільш сприятливо впливала на ріст міцелію ізоляту Р-

1 *L. personata*. Середня швидкість росту становила 6–8 мм/добу залежно від складу живильного середовища. Найбільша середня швидкість росту спостерігалася на живильних середовищах: РА (8,07±1,08 мм/добу), ВА (6,83±1,15 мм/добу), ПА (6,47±0,25 мм/добу) та КУА (6,30±0,31 мм/добу).

Найбільш сприятливими для росту ізоляту Р-2 *L. personata* (рис. 2) також були температури 20 та 22°C. Середня швидкість росту міцелію на більшості живильних середовищ була у 3–4 рази вищою, ніж за інших температур. З подальшим збільшенням температури ріст міцелію знижувався і при 30°C повністю інгібувався.

При 20°C достовірно вища середня швидкість росту міцелію відзначалася на живильних середовищах ЯА (4,70±0,14 мм/добу), РА (4,13±0,04 мм/добу), ГА (4,10±0,19 мм/добу) та КУА (3,47±0,16 мм/добу). При 22°C достовірно зростала швидкість росту ізоляту Р-2 *L. personata* на КГА (3,70±0,14 мм/добу), ВА (3,37±0,20 мм/добу) та ПА (3,93±0,29 мм/добу).

У ізоляту Р-3 (рис. 3) спостерігали високу середню швидкість росту за температури від 20 до 28°C на більшості живильних середовищ, але, як і в інших ізолятів, за температури 30°C ріст міцелію також уповільнювався на 1-3 мм/добу порівняно з ростом за оптимальних температур, що дозволяє стверджувати, що температури від 22 до 26°C є найбільш сприятли-

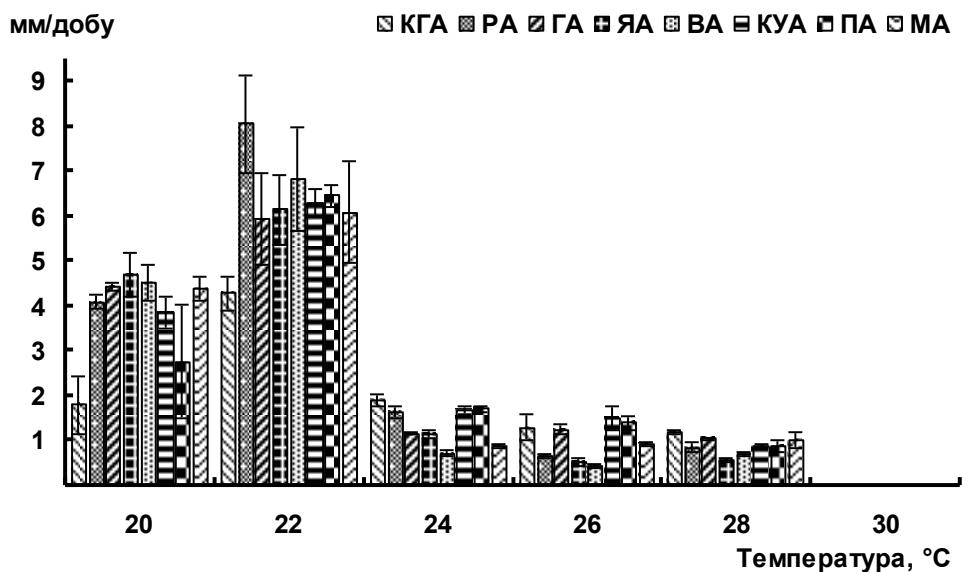


Рис. 1. Швидкість росту (мм/добу) ізоляту Р-1 *L. personata* на живильних середовищах за різних температур.

Тут і на рис. 2-4 агаризовані живильні середовища: КГА – картопляно-глюкозне, РА – рисове, ГА – горохове, ЯА – ячмінне, ВА – з висівками, КУА – кукурудзяне, ПА – пшеничне, МА – морквяне.

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕМПЕРАТУРИ І ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА

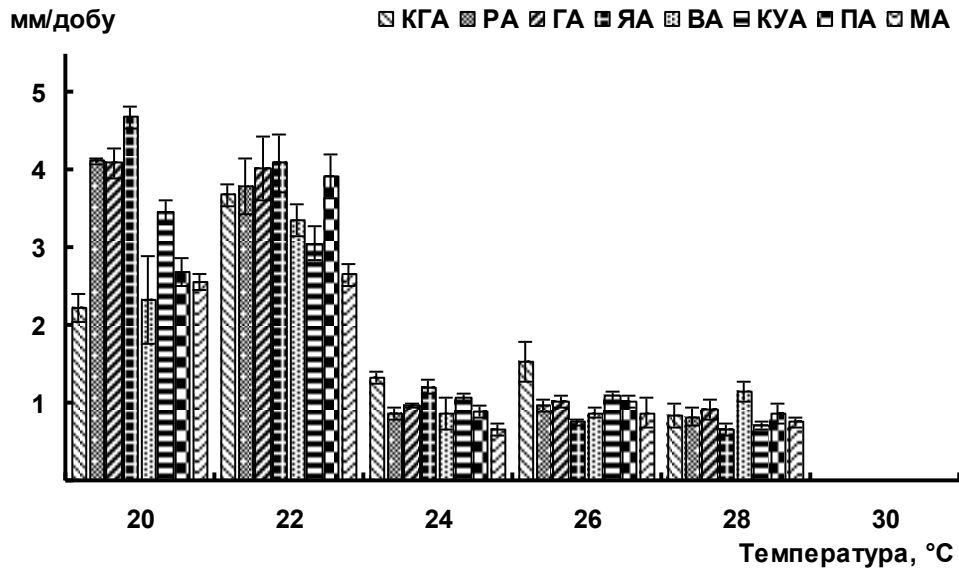


Рис. 2. Швидкість росту (мм/добу) ізоляту P-2 *L. personata* на живильних середовищах за різних температур.

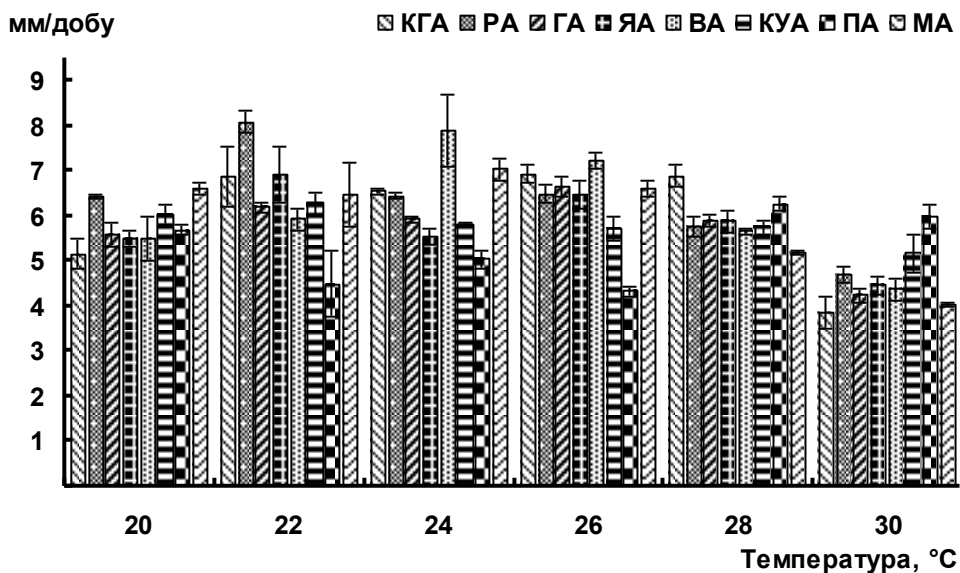


Рис. 3. Швидкість росту (мм/добу) ізоляту P-3 *L. personata* на живильних середовищах за різних температур.

вими для росту ізоляту P-3 *L. personata*. Найвища середня швидкість росту міцелію встановлена за температури 22°C на живильному середовищі РА ($8,10 \pm 0,25$ мм/добу), а також, при 24°C на середовищах ВА ($7,90 \pm 0,82$ мм/добу) та МА ($7,06 \pm 0,24$ мм/добу). Максимальна швидкість росту міцелію культури P-3 спостерігалась за температури 26°C на середовищах ВА ($7,22 \pm 0,18$ мм/добу) та КГА ($6,95 \pm 0,18$ мм/добу).

Найвища середня швидкість росту ізоляту P-4 *L. personata* відзначена за температури 22°C на більшості живильних середовищ (рис.

4). За температури 30°C середня швидкість росту цієї культури гриба на всіх живильних середовищах становила менше 1,00 мм/добу і достовірно не відрізнялася при використанні різних живильних середовищ.

Культивування за температури 20°C забезпечувало середню швидкість росту міцелію від 1,10 до 2,23 мм/добу. Найвища середня швидкість росту ізоляту P-4 *L. personata* виявлена на живильному середовищі РА ($2,23 \pm 0,46$ мм/добу).

Середня швидкість росту культури гриба зростала у 1,9-2,5 раза зі збільшенням темпера-

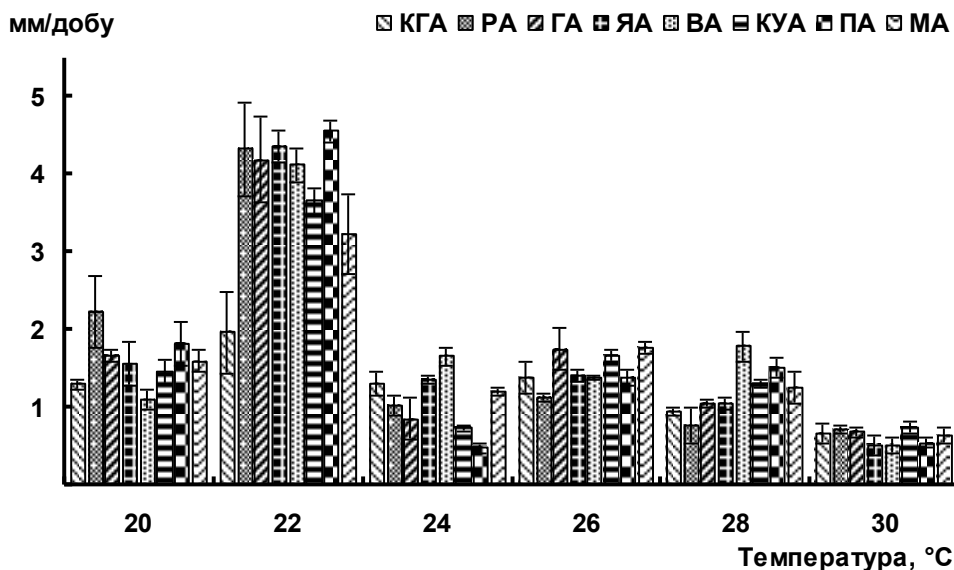


Рис. 4. Швидкість росту (мм/добу) ізоляту P-4 *L. personata* на живильних середовищах за різних температур.

тури культивування до 22°C на живильних середовищах РА (4,33±0,60 мм/добу), ГА (4,20±0,56 мм/добу), ЯА (4,37±0,22 мм/добу), ВА (4,13±0,22 мм/добу) та ПА (4,57±0,15 мм/добу). Подальше збільшення температури призвело до зниження середньої швидкості росту на всіх живильних середовищах.

На досліджених живильних середовищах спостерігали характерні особливості росту колонії міцелію ізолятів *L. personata* (рис. 5).

На КГА колонія міцелію ізолятів мала округлу форму і щільну повітряну структуру. Колір колонії білий, з віком набувала кремового відтінку. Край колонії притиснутий до субстрату. Зовнішня смуга колонії бахромчата, реверзум білий.

На МА середовищі колонія ізолятів мала округлу форму, не дуже щільна, нитчастої структури. Колір колонії помаранчевий. Край колонії розгалужений, не притиснутий до субстрату. Реверзум світло коричневий, з краю бурого кольору.

На РА середовищі колонія ізолятів представлена переважно зануреним міцелієм вишневого кольору. Реверзум при цьому дуже темного кольору з червоним відтінком.

На ГА середовищі колонія ізолятів гриба представлена головним чином зануреним міцелієм, який має жовтогарячий колір, реверзум жовто-бурий.

На КУА середовищі, як і на попередніх РА та ГА, колонія ізолятів *L. personata* також

представлена головним чином зануреним міцелієм. Колір колонії білий, реверзум світло-фіолетового кольору.

На ПА середовищі колонія ізолятів представлена середньо опушеним міцелієм. Колір колонії білий. Реверзум жовтуватий, ближче до краю білий. На ЯА середовищі колонія міцелію культур гриба мала округлу форму і щільну повітряну структуру. Колір колонії білий, реверзум жовтуватий.

На ВА середовищі колонія міцелію гриба представлена щільним, сильно опушеним міцелієм жовтого кольору, реверзум жовто-коричневий.

Отже, на всіх досліджених живильних середовищах відбувався ріст ізолятів *L. personata*. Залежно від складу живильного середовища змінювалося забарвлення міцелію і його щільність на поверхні середовища. Також істотно відрізнялася швидкість росту міцелію на різних живильних середовищах за різних температур.

Отримані нами результати залежності середньої швидкості росту від температури узгоджуються з іншими експериментальними даними (Stott et al., 1996), в яких максимальна швидкість росту для європейських ізолятів була встановлена за температури 22-25°C.

Найвища середня радіальна швидкість росту встановлена для культури P-1 на КГА, РА, ПА та КУА; для ізоляту P-2 на КГА, ЯА та

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕМПЕРАТУРИ І ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА

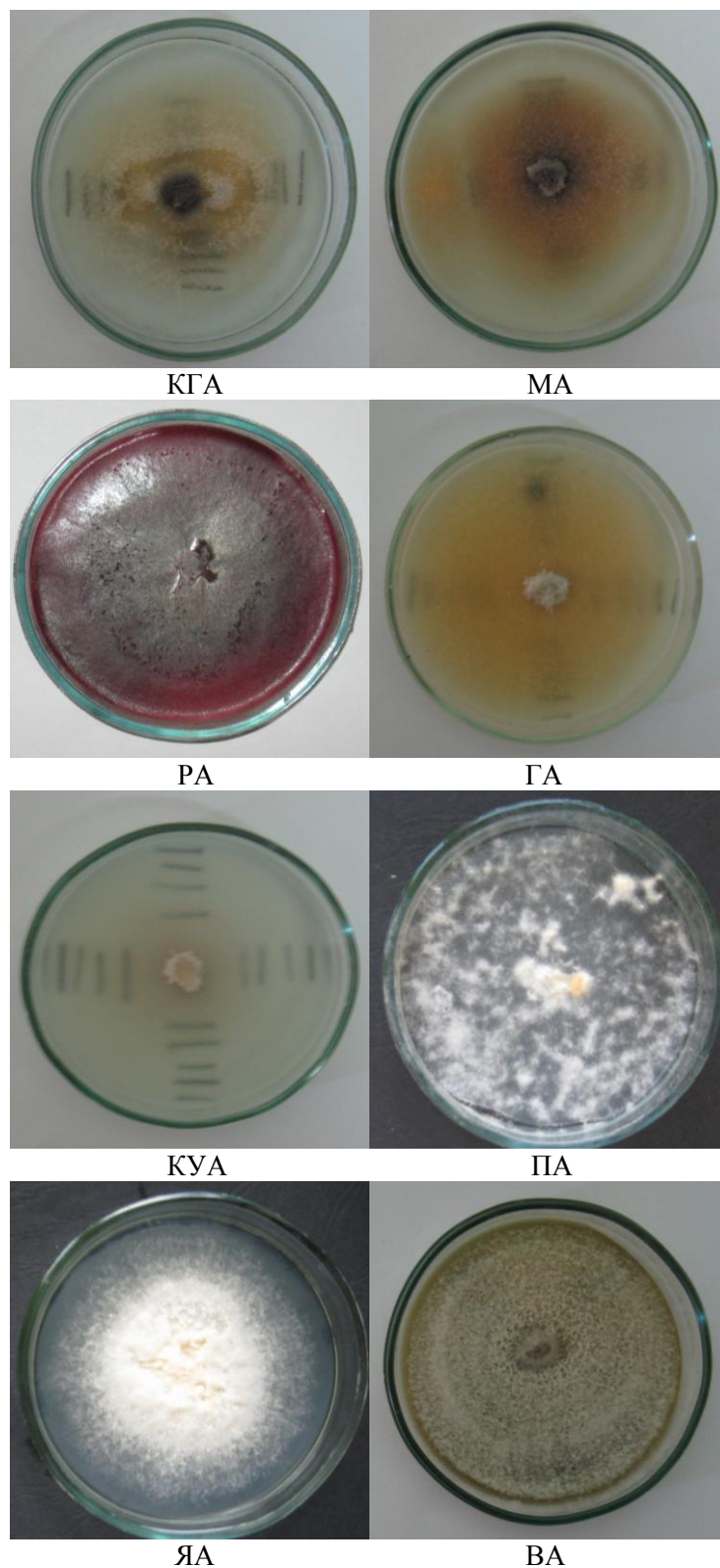


Рис. 5. Особливості морфології міцелію гриба *L. personata* на живильних середовищах КГА, МА, РА, ГА, КУА, ПА, ЯА та ВА.

ВА; для культури Р-3 на КГА, ВА та МА і для ізоляту Р-4 на ВА, ГА, КУА, МА та ПА.

Середня радіальна швидкість росту ізоляту Р-3 була у чотири рази вищою на всіх живильних середовищах порівняно з іншими ізоля-

тами, що свідчить про те, що на одній території зростання гриба *L. personata* можуть існувати його ізоляти (штами), які відрізняються між собою за фізіологічними показниками і цю властивість необхідно враховувати при доборі ак-

тивних ізолятів для промислового культивування.

Отже, оптимальною температурою для ростових процесів ізолятів Р-1, Р-2 та Р-4 *L. personata* є температура 22°C, для ізоляту Р-3 вона становить 22-26°C. За температури 30°C ріст ізолятів Р-1 та Р-2 на всіх живильних середовищах повністю пригнічувався, а у ізолятів Р-3 та Р-4 значно знижувався, що свідчить про негативний вплив цієї температури на даний фізіологічний показник гриба *L. personata*.

ЛІТЕРАТУРА

- Билай В.И. Основы общей микологии. – Киев: Высш. шк., 1980. – 360 с.
- Бисько Н.А., Дудка И.А. Биология и культивирование съедобных грибов рода вешенка. – Киев: Наук. думка, 1987. – 148 с.
- Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов // Микология и фитопатология. – 2004. – Т. 38, вып. 2. – С. 1-6.
- Бухало А.С., Соломко Е.Ф., Митропольська Н.Ю. Базидіальні макроміцети з лікарськими властивостями // Укр. ботан. журн. – 1996. – Т. 53, № 3. – С. 192-201.
- Великанов Л.Л., Сидорова И.И. Антибиотическая активность культур подстилочного сапротрофа *Lepista nuda* // Микология и фитопатология. – Т. 34, вып. 4, – 2000. – С. 10-15.
- Даниляк М.І., Решетніков С.В. Лікарські гриби. Медичне застосування та проблеми біотехнології. – К.: Ін-т ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, 1996. – 65 с.
- Денисова Н.П. Протеолитические ферменты базидиальных грибов, таксономические и экологические аспекты их изучения: Автореф. дис. докт. биол. наук. – Л., 1991. – 31 с.
- Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. Методы экспериментальной микологии. Справочник. – Киев: Наук. думка, 1982. – 550 с.
- Дудка И.А., Бисько Н.А., Билай В.Г. Культивирование съедобных грибов. – Киев: Урожай, 1992. – 160 с.
- Дудка І.О., Бисько Н.А., Цизь О.М. та ін. Розробка наукових основ промислового грибівництва та їх практична реалізація в аграрному комплексі України // Достижения, проблемы и перспективы культивирования грибов. Современные технологии. Мат-лы Междунар. науч.-практич. конф. (Донецк, 29.09-02.10 2005 г.). – Донецк, 2005. – С. 3-16.
- Краснопольская Л.М., Белицкий И.В., Федорова Г.Б. и др. *Pleurotus djator*: способы культивирования и антимикробные свойства // Микология и фитопатология. – 2001. – Т. 35, вып. 1. – С. 62-66.
- Негрук С.Ф., Шапошник Ю.А., Сычев П.А. и др. Горное грибоводство. – Донецк: Лебедь, 1995. – 168 с.
- Приседський Ю.Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів. – Донецьк: Кассиопея, 1999. – 210 с.
- Шреурс Х. Использование соломы различных видов злаков для приготовления компоста // Школа грибоводства. – 2004. – Т. 25, № 1. – С. 24-26.
- Dulger B., Cem Ergul C., Gucin F. Antimicrobial activity of the macrofungus *Lepista nuda* // Fitoterapia. – 2002. – V. 73. – P. 695-697.
- Hobbs C. Medicinal mushrooms. – Loveland: Interweave Press, 1996. – 252 p.
- Moradali M.F., Mostafavi H., Ghods S. et al. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi) // Int. Immunopharmacol. – 2007. – V. 7. – P. 701-724.
- Murcia M.A., Martinez-Tome M., Jimenez A.M. et al. Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing // J. Food Prot. – 2002. – V. 65. – P. 1614-1622.
- Stott K., Broderick A. Response of Australian strains of the mushroom *Lepista nuda* to temperature and substrate // Progress in New Crops. – Arlington, VA: ASHS Press, 1996. – P. 476-479.

Надійшла до редакції
16.08.2010 р.

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕМПЕРАТУРИ І ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА

DETERMINATION OF OPTIMAL TEMPERATURES AND NUTRIENT MEDIUM FOR THE GROWTH OF MUSHROOM *LEPISTA PERSONATA* (FR.: FR.) COOKE CULTURES – PERSPECTIVE OBJECT OF INDUSTRIAL CULTIVATION

A. V. Tiufkii, M. I. Boyko

*Donetsk National University
(Donetsk, Ukraine)*

The growth rate and mycelium morphology of *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke natural isolates on the organic composition media and at the different temperatures have been determined. It is established, that the optimal temperature for the growth of P-1, P-2 and P-4 isolates is 22°C, and for P-3 – 22-26°C. At the different nutrient media the changes in color of the mycelium, its density and growth rate have been occurred. The nutrient mediums, on which there was rapid growth of *Lepista personata* mycelium were determined.

Key words: *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke, mushroom, mycelium, temperature, nutrient medium

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР И ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ РОСТА КУЛЬТУР ГРИБА *LEPISTA PERSONATA* (FR. : FR.) СООКЕ – ПЕРСПЕКТИВНОГО ОБЪЕКТА ПРОМЫШЛЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

А. В. Тюфкий, М. И. Бойко

*Донецкий национальный университет
(Донецк, Украина)*

Определена скорость роста и морфология мицелия природных изолятов *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke на средах органического состава при разных температурах. Установлено, что оптимальная для роста изолятов P-1, P-2 и P-4 температура 22°C, а для культуры P-3 *Lepista personata* – 22-26°C. На разных питательных средах происходило изменение цвета мицелия, его плотности и скорости роста. Определили питательные среды, на которых происходил быстрый рост мицелия культур *Lepista personata*.

Ключевые слова: *Lepista personata* (Fr. : Fr.) Cooke, гриб, мицелий, температура, питательная среда